

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 浅羽 研介

本研究は腎組織障害の発症進展に重要な役割を果たしている酸化ストレスに関し、その主要な産生源である nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase の発現調節を明らかにするため、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットに NADPH oxidase 阻害薬である apocynin ならびに superoxide dismutase (SOD) mimetic である tempol を投与して酸化ストレスの抑制を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 腎臓で NADPH oxidase 構成成分の発現を Western blotting により検討すると、DM 群において細胞質成分の p47phox は腎の細胞膜分画と細胞質分画の両方で増加がみられた。apocynin 治療群では細胞膜分画で p47phox の有意な減少が認められたが、細胞質分画では認められなかった。また、p47phox の細胞膜/細胞質比は治療群で有意に低下した。これらは apocynin が p47phox の細胞膜への移動を阻害することを示している。一方、細胞膜成分である gp91phox は DM 群で有意に増加したが、apocynin 治療群では有意な増加はみられなかった。apocynin が p47phox とそのアンカーである gp91phox の結び付きを抑制し、NADPH oxidase の活性化を阻害することが示唆される。

2. DM ラットでは腎 NADPH oxidase の発現亢進に伴い、酸化ストレス産物である尿中過酸化脂質や尿中過酸化水素の増加がみられた。apocynin は NADPH oxidase を抑制することにより、これらの酸化ストレス産物を減少させた。

3. 内皮型 nitric oxide synthase (eNOS) の発現は DM ラットの腎臓で増加しており、apocynin はこれを変化させなかった。しかし、腎に

における NO 産生は apocynin 治療群で DM 群より増加した。apocynin がスーパーオキシドアニオン ($O_2^{\cdot-}$) による tetrahydrobiopterin の酸化を抑制して eNOS uncoupling を防ぎ NO bioavailability を高めた可能性が考えられる。

4. DM ラットの腎臓では、メサンジウム基質の増加や fibronectin、I 型コラーゲンの発現増加がみられた。また尿蛋白は増加した。apocynin 治療による酸化ストレスの抑制と NO bioavailability の増加により、これらの腎組織障害および尿蛋白は改善した。

5. DM ラットの腎臓では NADPH oxidase の発現亢進ならびに catalase の発現低下の結果、過酸化水素の増加を認めた。tempol は SOD 活性を亢進させ、糸球体内の過酸化水素を抑制したが、腎全体では過酸化水素の産生量は DM 群と同様であった。さらに DM 群では myeloperoxidase (MPO) の発現が亢進しており、その産物である hypochlorite が増加した。これらは tempol により減少しなかった。

6. DM 群の糸球体で TGF- β および fibronectin の発現亢進、メサンジウム基質の増大を認めたが、これらは tempol により抑制された。一方、尿蛋白および尿中 NAG は tempol により減少しなかった。MPO 亢進に伴い増加した hypochlorite による尿細管障害の可能性が考えられる。

以上、本論文はストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおいて、NADPH oxidase の発現と酸化ストレス、腎障害の解析から、抗酸化薬である apocynin と tempol の治療効果を明らかにした。本研究は腎 NADPH oxidase の抑制による糖尿病性腎症の治療法検討に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。